

ICS 19.020
CCS B 04

LS

中华人民共和国粮食行业标准

LS/T 6140—2022

粮油检验 免疫亲和柱评价规范

Inspection of grains and oils—Evaluation protocol of immunoaffinity column

2022-03-15 发布

2022-09-15 实施

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由国家粮食和物资储备局提出。

本文件由全国粮油标准化技术委员会(SAC/TC 270)归口。

本文件起草单位：国家粮食和物资储备局科学研究院、国家粮食和物资储备局标准质量中心、黑龙江国如生物科技有限公司、新疆维吾尔自治区粮油产品质量监督检验站、北京市粮油食品检验所、河南省粮油饲料产品质量监督检测中心、山东省粮油检测中心、山西粮食质量监测中心、重庆市粮油质量监督检验站、北京农业质量标准与检测技术研究中心、江南大学、安徽省粮油产品质量监督检测站、大庆市粮食质量检验监测站、福建中储粮粮油质监中心。

本文件主要起草人：王松雪、李丽、王正友、张艳、叶金、袁强、马宏、祁潇哲、王中江、谢刚、尚艳娥、尹成华、王培、王丽娟、邹勇、韩煜晖、李伟、陆安祥、孙秀兰、周勋、郑理芳。

粮油检验 免疫亲和柱评价规范

1 范围

本文件界定了免疫亲和柱评价的术语和定义,规定了免疫亲和柱评价通用要求、评价程序、计算和评价报告等内容。

本文件适用于免疫亲和柱相关技术指标评价。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB 2761 食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量

JJF 1001 通用计量术语及定义

SN/T 2775 商品化食品检测试剂盒评价方法

3 术语和定义

JJF 1001 和 SN/T 2775 界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

免疫亲和柱 **immunoaffinity column**

利用抗原抗体特异性可逆结合特性的固相萃取技术,根据抗原抗体的高选择性,从极端复杂的环境中萃取出目标物及其类似物的一种净化材料,亦能利用抗体对目标物及其类似物亲和力的不同而达到层析分离。

3.2

基质 **matrix**

样本中除分析物以外的成分。

[来源:SN/T 2775—2011,3.2]

3.3

标准物质 **reference material**

具有一种或多种规定特性足够均匀且稳定的材料,已被确定其符合测量过程的预期用途。

[来源:SN/T 2775—2011,3.3]

3.4

有证标准物质 **certified reference material, CRM**

附有由权威机构发布的文件,提供使用有效程序获得的具有不确定度和溯源性的一个或多个特性值的标准物质。

[来源:JJF 1001—2018,8.15]

3.5

基质效应 **matrix effect**

样本中除分析物以外的其他成分对分析物测定值的影响以及基质对分析方法准确测定分析物的能

力的干扰。

[来源:SN/T 2775—2011,3.5]

3.6

柱容量 column capacity

免疫亲和柱的最大吸附量。

4 通用要求

4.1 应有中文标签和标识,包括制品名称、批号、规格、数量、有效期限、保存条件、生产者、地址、联系方式等。

4.2 应有说明书,包括简介、适用范围、用途、原理、产品组分、保存条件、操作程序和注意事项等。

5 评价程序

5.1 评价原则

5.1.1 一物一评

不同基质应独立评价。

5.1.2 基于批次

评价应基于同一批次产品,评价结果适用于该批次产品。

5.2 样品选择

选择目标物未检出的空白基体样品、有证标准物质或标准物质,样本量应不少于6个。

5.3 方法选择

应根据不同的评价产品选择国家标准、行业标准方法或经过验证的其他参考方法。

5.4 评价指标

5.4.1 柱本底评测

同一批次的免疫亲和柱随机抽取6根,按照说明书中的方法,流出保护液,直至空气进入,用洗脱液洗脱免疫亲和柱,洗脱液经高效液相色谱仪或高效液相色谱串联质谱仪等检测,通常不得检出。

5.4.2 柱容量评测

同一目标物同一批次的免疫亲和柱随机抽取6根,测定免疫亲和柱柱容量。

5.4.3 柱回收率评测

5.4.3.1 特异性

考察空白样品残留及空白基质干扰。取与待检测样品同基质的空白样品,按照5.3选定的方法检测,每批次随机抽取6根,验证考察空白样品残留及空白基质的干扰情况,考察免疫亲和柱对空白基质干扰的净化能力。

5.4.3.2 准确性

不同浓度水平的基质液加标回收。取与待检测样品同基质的空白样品提取液进行加标,至少应包含评价浓度的 50%、100%、150% 3 个浓度水平,评价浓度应为 GB 2761 中规定的限量浓度或用户检测需求的浓度。按照 3 水平 6 平行的原则,每批次随机抽取 18 根免疫亲和柱进行验证,检验同一批次免疫亲和柱的准确性。

5.4.4 验证评测

应选择有证标准物质或标准物质评测。采用 5.3 选定的方法,每批次随机抽取 6 根免疫亲和柱进行验证。计算检测结果的平均值、标准偏差、相对标准偏差以及准确性。

6 计算

6.1 回收率 R 的计算

回收率 R 按式(1)计算。

$$R = \frac{(C_i - C_0) \times V_2}{C \times V_1} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中:

C_i ——第 i 个样液中目标物质的浓度;

C_0 ——空白试验中目标物质的浓度;

V_2 ——样液最终定容体积;

C ——加标所用的目标物浓度;

V_1 ——加标体积。

注:含量和体积的单位根据实际评价的目标物质而定。

6.2 平均值 \bar{X} 的计算

平均值 \bar{X} 按式(2)计算。

当 n 个实验结果分别为 $X_1, X_2, X_3, \dots, X_n$ 时,有

$$\bar{X} = \frac{X_1 + X_2 \dots + X_i \dots + X_n}{n} \quad \dots\dots\dots(2)$$

式中:

X_i ——第 i 个实验结果, $i=1, 2, \dots, n$;

n ——实验结果的数目。

6.3 标准偏差 S 的计算

标准偏差 S 按式(3)计算。

$$S = \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{n - 1}} \quad \dots\dots\dots(3)$$

式中:

$\sum (X_i - \bar{X})^2$ ——第 i 个实验结果与平均值差的平方和, $i=1, 2, \dots, n$ 。

6.4 相对标准偏差 RSD 的计算

相对标准偏差 RSD 按式(4)计算。

$$RSD = \frac{S}{\bar{X}} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(4)$$

式中：

S ——标准偏差；

\bar{X} —— n 个实验结果的平均值。

7 评价报告

评价报告应包括：

——产品基本信息；

——评价样品信息；

——评价方法；

——实验人员、实验日期；

——评价结果。

免疫亲和柱评价结果报告见附录 A。

部分真菌毒素免疫亲和柱评价推荐要求见附录 B。

附录 A

(资料性)

免疫亲和柱评测结果报告示例

免疫亲和柱评测结果报告见表 A.1。

表 A.1 《_____免疫亲和柱评测》结果报告

实验室名称：_____ 测试方法：_____

| 评测项目 | | 产品批号 | | | | | | 平均值 | 评测基体 | | | 方法摘要 | | | |
|--|------------------------|------|---|---|---|---|---|-------|--------|-------------|--------|-------|------|----|--|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | | 标准偏差 | | | 前处理方法 | 仪器条件 | 备注 | |
| 实验结果 | 柱本底试验 ^a | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 平均值 | 标准偏差 | | | | | | |
| | 测定值 | | | | | | | | | | | | | | |
| | 阴性样本提取液 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 平均值 | 标准偏差 | | | | | | |
| | 测定值 | | | | | | | | | | | | | | |
| | 阴性样本提取液加标 ^b | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 加标浓度 | 平均测定值 | 回收率 | 相对标准偏差 | | | | |
| | 水平 1 | | | | | | | | | | | | | | |
| | 水平 2 | | | | | | | | | | | | | | |
| | 水平 3 | | | | | | | | | | | | | | |
| 应用评测 | 标准物质编号 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 平均值 | 相对标准偏差 | 特性值 | 不确定度 | 方法回收率 | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | |
| | ... | | | | | | | | | | | | | | |
| | 标准曲线 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | R^2 | 标准母液浓度 | 方法检测限 (LOD) | | | | | |
| | 浓度值 | | | | | | | | | | | | | | |
| ^a 除不加样品外,程序同方法。 ^b 考察的 3 水平浓度。 | | | | | | | | | | | | | | | |

实验人员：_____

实验日期：_____

附录 B

(资料性)

部分真菌毒素免疫亲和柱评价推荐要求

部分真菌毒素免疫亲和柱评价推荐要求见表 B.1。

表 B.1 部分真菌毒素免疫亲和柱评价推荐要求

| 真菌毒素 | 评价指标 | 推荐要求 |
|---|------------------|-------------------------------------|
| 脱氧雪腐镰刀菌烯醇 | 柱本底 | 不得检出,低于方法的检出限 |
| | 柱容量 | $\geq 2\ 000\ \text{ng}$ |
| | 柱回收 | $\geq 85\%$,RSD 值不大于 10% |
| 玉米赤霉烯酮 | 柱本底 | 不得检出,低于方法的检出限 |
| | 柱容量 ^a | $\geq 1\ 500\ \text{ng}$ |
| | 柱回收 | $\geq 85\%$,RSD 值不大于 10% |
| 黄曲霉毒素 B 族和 G 族 | 柱本底 | 不得检出,低于方法的检出限 |
| | 柱容量 ^b | 黄曲霉毒素总量的柱容量 $\geq 200\ \text{ng}$ |
| | 柱回收 | $\geq 85\%$,RSD 值不大于 10% |
| 赭曲霉毒素 A | 柱本底 | 不得检出,低于方法的检出限 |
| | 柱容量 ^a | $\geq 100\ \text{ng}$ |
| | 柱回收 | $\geq 85\%$,RSD 值不大于 10% |
| 伏马毒素 | 柱本底 | 不得检出,低于方法的检出限 |
| | 柱容量 ^c | 伏马毒素总量的柱容量 $\geq 5\ 000\ \text{ng}$ |
| | 柱回收 | $\geq 90\%$,RSD 值不大于 10% |
| T-2 毒素 | 柱本底 | 不得检出,低于方法的检出限 |
| | 柱容量 ^a | $\geq 1\ 500\ \text{ng}$ |
| | 柱回收 | $\geq 85\%$,RSD 值不大于 10% |
| ^a 参考食品安全国家标准的相关规定。 ^b 黄曲霉毒素总量以黄曲霉毒素 B ₁ 、黄曲霉毒素 B ₂ 、黄曲霉毒素 G ₁ 、黄曲霉毒素 G ₂ 总和计。 ^c 伏马毒素总量以伏马毒素 B ₁ 、伏马毒素 B ₂ 、伏马毒素 B ₃ 总和计。 | | |